

**COMPOSITION SHOWING INHIBITORY ACTIVITY AGAINST  
ARACHIDONIC ACID METABOLIZING ENZYME AND ITS PRODUCTION**

Patent Number: JP8245412  
Publication date: 1996-09-24  
Inventor(s): NOGATA YOICHI; OTA HIDEAKI; SEKIYA KEIZO  
Applicant(s): NORIN SUISANSYO CHUGOKU NOGYO SHIKENJO  
Requested Patent: ☐ JP8245412  
Application Number: JP19950074701 19950308  
Priority Number(s):  
IPC Classification: A61K35/78; A61K35/78; A61K35/78; A61K35/78; C12N9/99  
EC Classification:  
Equivalents: JP2732504B2

---

**Abstract**

---

**PURPOSE:** To obtain a composition showing inhibitory activity against an arachidonic acid metabolizing enzyme from the pericarp of a citrus fruit.

**CONSTITUTION:** This composition comprises an extract from the pericarp of a prescribed citrus fruit as an active ingredient and shows inhibitory activity against an arachidonic acid metabolizing enzyme. The characteristics of a method for producing the composition comprising the extract from the pericarp of the citrus fruit as the active ingredient and showing inhibitory activity against the arachidonic acid metabolizing enzyme is composed of extracting the pericarp of the prescribed citrus fruit with an alcohol or a mixed solution of the alcohol and dimethyl sulfoxide or dimethylformamide and optionally purifying the extract. By adding the composition as a food material to various kinds of foods, cardio-vascular diseases such as atherosclerosis and thrombosis, etc., allergic diseases and diseases such as inflammations can be effectively prevented and treated.

---

Data supplied from the esp@cenet database - I2

(19)日本国特許庁 (J P)

(12) 公 開 特 許 公 報 (A)

(11)特許出願公開番号

特開平8-245412

(43)公開日 平成8年(1996)9月24日

| (51)Int.Cl. <sup>6</sup>    | 識別記号                             | 庁内整理番号 | F I           | 技術表示箇所   |
|-----------------------------|----------------------------------|--------|---------------|--|
| A 6 1 K 35/78               | A E D<br>A B E<br>A B F<br>A B N |        | A 6 1 K 35/78 | A E D K<br>A B E<br>A B F<br>A B N               |
| C 1 2 N 9/99                |                                  |        | C 1 2 N 9/99  |  |
| 審査請求 有 請求項の数 7 F D (全 12 頁) |                                  |        |               |  |
| (21)出願番号                    | 特願平7-74701                       |        | (71)出願人       | 593026649<br>農林水産省中国農業試験場長<br>広島県福山市西深津町六丁目12番1号 |
| (22)出願日                     | 平成7年(1995)3月8日                   |        | (72)発明者       | 野方 洋一<br>広島県福山市東深津町3丁目8番9号 グ<br>リーンパーク東深津A101    |
|                             |                                  |        | (72)発明者       | 太田 英明<br>広島県福山市西深津町6丁目11番5-101<br>号              |
|                             |                                  |        | (72)発明者       | 関谷 敬三<br>香川県善通寺市文京町2丁目2番17-402<br>号              |
|                             |                                  |        | (74)代理人       | 弁理士 久保田 藤郎                                       |

(54)【発明の名称】 アラキドン酸代謝酵素阻害活性を示す組成物とその製造法

(57)【要約】

【構成】 特定のカンキツ類の果皮からの抽出物を有効成分とするアラキドン酸代謝酵素阻害活性を示す組成物並びに特定のカンキツ類の果皮からアルコール類またはアルコール類とジメチルスルフォキシドまたはジメチルホルムアミドとの混液を用いて抽出し、必要に応じて抽出物を精製することを特徴とするカンキツ類の果皮からの抽出物を有効成分とするアラキドン酸代謝酵素阻害活性を示す組成物の製造法。

【効果】 本発明によれば、カンキツ類の果皮からアラキドン酸代謝酵素に対する阻害活性を示す組成物が得られる。このものを食品素材として各種食品に添加することにより、動脈硬化、血栓などの循環器系疾患、アレルギー性疾患や炎症などの疾患を効果的に予防、治療することができる。したがって、本発明はカンキツ類の新たな用途を開発したものであり、カンキツ類の一層の有効利用が図られる。

## 【特許請求の範囲】

【請求項1】 カンキツ属の初生カンキツ亜属のライム区、シトロン区、ザボン区、ダイダイ区および後生カンキツ亜属のユズ区またはミカン区に属するカンキツ類から選ばれたカンキツ類の果皮からの抽出物を有効成分とするアラキドン酸代謝酵素阻害活性を示す組成物。

【請求項2】 カンキツ属の初生カンキツ亜属のライム区、シトロン区、ザボン区、ダイダイ区および後生カンキツ亜属のミカン区に属するカンキツ類から選ばれたカンキツ類の果皮からの抽出物を有効成分とするシクロオキシゲナーゼ阻害活性を示す組成物。

【請求項3】 カンキツ属の初生カンキツ亜属のシトロン区、ザボン区、ダイダイ区および後生カンキツ亜属のユズ区またはミカン区に属するカンキツ類から選ばれたカンキツ類の果皮からの抽出物を有効成分とする12-リボキシゲナーゼ阻害活性を示す組成物。

【請求項4】 カンキツ属の初生カンキツ亜属のシトロン区および後生カンキツ亜属のミカン区に属するカンキツ類から選ばれたカンキツ類の果皮からの抽出物を有効成分とするシクロオキシゲナーゼおよび12-リボキシゲナーゼ阻害活性を示す組成物。

【請求項5】 果皮からの抽出物が、アルコール抽出物またはアルコールとジメチルスルフォキシド混液抽出物である請求項1記載の組成物。

【請求項6】 果皮が、フラベドおよび／またはアルベドである請求項1～3のいずれかに記載の組成物。

【請求項7】 カンキツ属の初生カンキツ亜属のライム区、シトロン区、ザボン区、ダイダイ区および後生カンキツ亜属のユズ区またはミカン区に属するカンキツ類から選ばれたカンキツ類の果皮からアルコール類またはアルコール類とジメチルスルフォキシドまたはジメチルホルムアミドとの混液を用いて抽出し、必要に応じて抽出物を精製することを特徴とするカンキツ類の果皮からの抽出物を有効成分とするアラキドン酸代謝酵素阻害活性を示す組成物の製造法。

## 【発明の詳細な説明】

## 【0001】

【産業上の利用分野】本発明は、アラキドン酸代謝酵素阻害活性を示す組成物およびその製造法に関し、詳しくはカンキツ類の果皮からの抽出物を有効成分とするアラキドン酸代謝酵素阻害活性を示す組成物およびその製造法に関する。

## 【0002】

【従来の技術および発明が解決しようとする課題】近年、各種の成人病やアレルギー性疾患が急速に増加し、社会問題となっている。これら疾病のうち動脈硬化、血栓などの循環器系疾患、アレルギー性疾患や炎症などにはアラキドン酸代謝産物が関与していることが知られている。アラキドン酸は、生体内で細胞膜のリン脂質の脂肪酸構成成分として存在するものであり、組織や細胞が

ある種の刺激を受けると、ホスホリパーゼの作用によりリン脂質から遊離してくる。遊離したアラキドン酸は、アラキドン酸代謝系の中の12-リボキシゲナーゼやシクロオキシゲナーゼなどの酵素によって代謝され、発熱に関与するプロスタグランジン類、血栓に関与するトロンボキサン類あるいはロイコトリエン類、リボキシニン類などの物質に変換される。

【0003】このように、上記酵素による代謝産物は、循環器系疾患、アレルギー性疾患や炎症などの原因物質として関与している可能性がある。そこで、これらの病気の予防、治療のためには原因物質であるアラキドン酸代謝産物の生成を特異的に阻害することが有効であると考えられる。

【0004】アラキドン酸代謝系に関与している代表的な酵素として12-リボキシゲナーゼおよびシクロオキシゲナーゼが挙げられる。12-リボキシゲナーゼは、アラキドン酸をして中膜平滑筋を遊走させたり、動脈硬化やアレルギー疾患の原因となる12-ヒドロキシ-5, 8, 10, 14-エイコサテトラエン酸(12-HETE)に代謝する酵素である。また、シクロオキシゲナーゼは、発熱や炎症に関わるプロスタグランジン類や血栓に関わるトロンボキサン類を生合成する酵素である。

## 【0005】

【課題を解決するための手段】ところで、環瀬戸内海を中心とするカンキツ類の産地では、カンキツ類に新たな価値を付与し、用途の拡大を図る技術が求められている。本発明者らは、カンキツ属に属するカンキツ類の主要品種からのアルコール抽出物が血小板アラキドン酸を代謝する酵素に及ぼす影響について研究し、特定のカンキツ品種がアラキドン酸を代謝する主要な2つの酵素活性を阻害することを見出した。本発明は、このような知見に基づいて完成されたものである。すなわち、カンキツ属の初生カンキツ亜属のライム区、シトロン区、ザボン区、ダイダイ区および後生カンキツ亜属のミカン区からの抽出物がシクロオキシゲナーゼを阻害する作用を有すること並びにカンキツ属の初生カンキツ亜属のシトロン区、ザボン区、ダイダイ区および後生カンキツ亜属のユズ区またはミカン区からの抽出物が12-リボキシゲナーゼを阻害する作用を有すること、さらにカンキツ属の初生カンキツ亜属のシトロン区および後生カンキツ亜属のミカン区からの抽出物は、シクロオキシゲナーゼだけでなく12-リボキシゲナーゼをも阻害する作用を有していることを見出し、本発明を完成するに至ったのである。

【0006】請求項1に記載の本発明は、カンキツ属の初生カンキツ亜属のライム区、シトロン区、ザボン区、ダイダイ区および後生カンキツ亜属のユズ区またはミカン区に属するカンキツ類から選ばれたカンキツ類の果皮からの抽出物を有効成分とするアラキドン酸代謝酵素阻

3

害活性を示す組成物である。請求項2に記載の本発明は、カンキツ属の初生カンキツ亜属のライム区、シトロン区、ザボン区、ダイダイ区および後生カンキツ亜属のミカン区に属するカンキツ類から選ばれたカンキツ類の果皮からの抽出物を有効成分とするシクロオキシゲナーゼ阻害活性を示す組成物である。請求項3に記載の本発明は、カンキツ属の初生カンキツ亜属のシトロン区、ザボン区、ダイダイ区および後生カンキツ亜属のユズ区またはミカン区に属するカンキツ類から選ばれたカンキツ類の果皮からの抽出物を有効成分とする12-リポキシゲナーゼ阻害活性を示す組成物である。請求項4に記載の本発明は、カンキツ属の初生カンキツ亜属のシトロン区および後生カンキツ亜属のミカン区に属するカンキツ類から選ばれたカンキツ類の果皮からの抽出物を有効成分とするシクロオキシゲナーゼおよび12-リポキシゲナーゼ阻害活性を示す組成物である。請求項5に記載の本発明は、果皮からの抽出物が、アルコール抽出物またはアルコールとジメチルスルフォキシド混液抽出物である請求項1記載の組成物である。請求項6に記載の本発明は、果皮がフラベドおよび/またはアルベドである請求項1〜3のいずれかに記載の組成物である。請求項7に記載の本発明は、カンキツ属の初生カンキツ亜属のライム区、シトロン区、ザボン区、ダイダイ区および後生カンキツ亜属のユズ区またはミカン区に属するカンキツ類から選ばれたカンキツ類の果皮からアルコール類またはアルコール類とジメチルスルフォキシドまたはジメチルホルムアミドとの混液を用いて抽出し、必要に応じて抽出物を精製することを特徴とするカンキツ類の果皮からの抽出物を有効成分とするアラキドン酸代謝酵素阻害活性を示す組成物の製造法である。

【0007】本発明に用いるカンキツ類は、カンキツ属の初生カンキツ亜属および後生カンキツ亜属に属するものである。詳しくは、初生カンキツ亜属のライム区、シトロン区、ザボン区、ダイダイ区および後生カンキツ亜属のユズ区またはミカン区に属するカンキツ類である。これらカンキツ類の具体的な品種を例示すると、メキシカンライム、タヒチライム、ベルガモット、ピロロ、シトロン、アレンユーレカレモン、スイートレモン、ルミー、ハッサク、ナツミカン、サンボウカン、バレンシアオレンジ、森田ネーブル、イヨカン、ヒュウガナツ、シュンコウカン、スダチ、ボンカン、オオベニミカン、ジミカン、シカイカン、タチバナ、コベニミカン、シークワシャー等が挙げられる。

【0008】アラキドン酸代謝酵素阻害活性を有する組成物は、上記カンキツ類の果実を用いて製造される。果実部位のうち、果皮、じょうのう、果肉ジュースを利用することができるが、特に果皮が好ましい。果皮は必要に応じてフラベドとアルベドに分けて用いることができる。また、果実は未熟のものでも利用できるが、一般的には適熟のものが好ましい。

4

【0009】次に、本発明のアラキドン酸代謝酵素阻害活性を有する組成物の製造方法について以下に述べる。カンキツ類の果皮から有効成分を抽出するために有機溶媒を使用する。本発明では上記組成物を主として食品素材等として利用することを企図しているので、この目的に適する有機溶媒を選択すべきである。そのため、メチルアルコール、エチルアルコールなどのアルコール類が好適である。これらアルコール類は単独で使用してもよく、またジメチルスルフォキシドまたはジメチルホルムアミドとの混液として用いてもよい。その場合、アルコール類とジメチルスルフォキシドやジメチルホルムアミドとの混液等は容量比で10:0~10:10の範囲で用いることが好ましい。また、水単独またはアセトンとジメチルホルムアミドの混液等も溶媒として用いることができる。

【0010】抽出方法の1例を示すと、室温で行う場合、カンキツ類の果皮に有機溶媒を加えてロータリーシェーカー等の攪拌手段にて攪拌しながら一晩抽出する。また、60℃程度に加温して行う場合、カンキツ類の果皮に有機溶媒を加えたものを恒温槽中に20分程度放置すればよい。但し、抽出用の原料は予め凍結乾燥し、粉碎したものをを用いることが望ましい。原料が生部位であれば、抽出溶媒を添加後、ホモジナイザーなどで均一にホモジナイズしてから抽出を行うべきである。

【0011】抽出物はそのままアラキドン酸代謝酵素阻害活性を有する組成物として用いることができるが、必要に応じて精製する。その1例を示すと、抽出により得た画分を蒸留水で10倍以上に希釈し、逆相クロマトグラフィー（例えばODS）に吸着させたのち、水または10%程度のメチルアルコール水溶液で洗浄する。次いで、メチルアルコールあるいはエチルアルコールで溶出してアルコール画分を得、これを減圧濃縮し、濃縮物を乾固あるいは真空凍結乾燥することにより、精製された組成物が得られる。なお、果皮部位（フラベド、アルベド）によって抽出方法が変わることはないけれども、抽出により得られる物質としては、例えばフラベドからトコフェロール類、テルペン類、精油成分、フラボノイド類、ポリフェノール類等が、アルベドからフラボノイド類、ポリフェノール類等が、じょうのうからも同様にフラボノイド類、ポリフェノール類等が、ジュースからフラボノイド類、ポリフェノール類やビタミンC等の有機酸が得られるものと予想される。

【0012】次に、上記の方法で製造した組成物を用いたアラキドン酸代謝酵素阻害のアッセイ系について述べる。Wistar-king 系正常ラット（150~400g）から血液を採取し、これにエチレンジアミンテトラアセテート（EDTA）を抗凝固剤として加え（0.5mM）、この血液を1200rpmで10分間遠心分離する。得られた上清（多血小板血漿）をさらに3000rpmで10分間遠心分離する。沈殿した血小板を1mM

EDTAを含む25mM Tris-HCl, 130 mM NaCl液(pH7.4)で2回洗浄した後、この洗浄血小板を1mMEDTAを含む同液に懸濁して超音波処理を行う。この超音波処理した血小板をアラキドン酸代謝の酵素液とする。別途調製した試料を、この血小板ホモジネート(1~2mgタンパク質/ml)と共に容器に加え、37℃で1~10分間、好ましくは5分間予備的にインキュベートし、 $[1-^{14}C]$ アラキドン酸(0.05 $\mu$ Ci)を加えて37℃で5~10分間、好ましくは5分間インキュベートする。

【0013】次いで、0.5N ギ酸0.2mlを添加して反応を停止し、アラキドン酸代謝物を3mlの酢酸エチルで抽出する。抽出液は窒素気流中で乾固し、少量(40 $\mu$ l)の酢酸エチルに溶解し、シリカゲルプラスチックシートに定量的にスポットし、クロロホルム-メチルアルコール-酢酸-水(90:8:1:0.8v/v)の展開溶媒に展開する。得られた放射活性代謝産物をオートラジオグラフィーで検出し、その放射活性からアラキドン酸代謝物阻害活性を定量する。この方法によると、主として4つのスポットが現れる。すなわち、シクロオキシゲナーゼにより代謝されて生成するトロンボキサン $B_2$ (TX $B_2$ )、12-リポキシゲナーゼにより代謝されて生成する12-ヒドロキシ-5, 8, 10, 14-エイコサテトラエン酸(12-HETE)と12-ヒドロキシ-5, 8, 10-ヘプタデカトリエン酸(12-HHT)および酵素阻害の結果代謝されずに残ったアラキドン酸である。シクロオキシゲナーゼや12-リポキシゲナーゼの酵素阻害活性は、それぞれTX $B_2$ 、12-HETEのコントロールと比較したこれらの放射活性の強度からの測定する。しかし、12-HHTは生理活性がないため、この実験では定量していない。本発明の組成物が示す酵素阻害活性は、原料として用いるカンキツ類の種類や組成物の使用量(添加濃度)などにより異なるが、後記の表に示した通りの活性を有しており、例えば添加濃度が1000 $\mu$ g/mlのとき、シクロオキシゲナーゼに対して0~95%、12-リポキシゲナーゼに対して0~86%である。

【0014】

【実施例】次に、本発明を実施例により詳しく説明する。

#### 実施例1

(1) アラキドン酸代謝酵素阻害活性を示す組成物の調製

供試カンキツ類(45品種の代表として、後生カンキツ亜属ミカン区コミカン亜区柑香類大果亜類ポンカンを選択)の凍結乾燥後粉碎した果皮(アルベド部位)1.5gを100%メチルアルコール25mlを用いて20℃(室温)で12時間抽出し、2000rpmで10分間遠心分離して上清を回収した。沈殿物にメチルアルコール25mlを添加後、再度遠心分離して上清を回収し、

この操作をさらに2回繰り返して100mlの抽出液を得た。次いで、この画分を蒸留水で10倍に希釈し、これを逆相クロマトグラフィー(ODS)に吸着させ、10%メチルアルコール水溶液で洗浄後、100%メチルアルコールで溶出して得たアルコール画分をロータリーエバポレーターを用いて40℃で減圧乾固し、組成物を調製した。また、ジュースからの組成物の調製は、果肉をミキサーで粉碎し、10,000rpmで30分間遠心分離して上清を回収し、上清45mlを逆相クロマトグラフィー(ODS)に吸着させ、以降は上記と同様にして調製した。

【0015】(2) アラキドン酸代謝酵素阻害活性の測定

#### ①血小板アラキドン酸代謝系の調製

Wistar-king系正常ラット(150~400g)から血液を採取し、これに0.5mMのEDTAを抗凝固剤として加えた。この血液を1200rpmで10分間遠心分離し、得られた上清(多血小板血漿)をさらに3000rpmで10分間遠心分離した。沈殿した血小板を1mMEDTAを含む25mM Tris-HCl, 130mM NaCl液(pH7.4)で2回洗浄した。この洗浄血小板を1mMEDTAを含む同液に懸濁して超音波処理を行った。この超音波処理した血小板をアラキドン酸代謝のための酵素液とした。

#### 【0016】②アラキドン酸代謝酵素阻害活性の測定

この血小板ホモジネート(1~2mgタンパク質/ml)0.13mlを別に調製した組成物試料0.02ml(終濃度10~1000 $\mu$ g/ml)と共に容器に加え、37℃で5分間予備的にインキュベートし、 $[1-^{14}C]$ アラキドン酸(0.05 $\mu$ Ci)0.05mlを加えて37℃で5分間インキュベートした。次に、0.5N ギ酸0.2mlを添加して反応を停止し、アラキドン酸代謝物を酢酸エチル3mlで抽出した。抽出液は窒素気流中で乾固し、40 $\mu$ lの酢酸エチルに溶解し、シリカゲルプラスチックシートに定量的にスポットし、クロロホルム-メチルアルコール-酢酸-水(90:8:1:0.8v/v)の展開溶媒に展開した。得られた放射活性代謝産物をオートラジオグラフィーで検出し、その放射活性からアラキドン酸代謝酵素阻害活性を定量した。なお、組成物を添加しない場合をコントロールとし、これと比較してアラキドン酸代謝酵素の阻害活性を求めた。

【0017】結果を図1、第1~4表に示す。また、図2にカンキツ品種とその果皮抽出物がアラキドン酸代謝に及ぼす影響との関係を示した。図1は、オートラジオグラフィーのパターンで、左からコントロール、サンプル濃度1000 $\mu$ g/ml, 100 $\mu$ g/ml, 10 $\mu$ g/mlの放射活性を示す。また、第1表は酵素活性を50%阻害するのに必要なサンプルの濃度を示し、第2表はサンプル濃度が10 $\mu$ g/mlの阻害活性を、第3

8

\*る(c)、阻害活性のない(d)の4つの領域に分布してある。(a)領域は12-HETEの生成量が100%を超えているが、これは12-リポキシゲナーゼを賦活化する成分が存在することを意味するのではなく、シクロオキシゲナーゼ活性が選択的に阻害された結果、基質(アラキドン酸)の奪い合いの競争がなくなり、見かけ上12-HETEの生成量が増加したことを意味し、また(c)領域は(a)領域とは逆に12-リポキシゲナーゼ活性が選択的に阻害されたことを意味する。

【0019】

【表 1】

を阻害する (b)、12-HETEの生成のみを阻害す\*

第 1 表 (その 1)

| カンキツ品種       | IC <sub>50</sub> (50%活性阻害濃度、 $\mu\text{g}/\text{ml}$ )<br>リボキシゲナーゼ | シクロオキシゲナーゼ |
|--------------|--|------------|
| カプヤオ         | > 1 0 0 0  | 1 5 3      |
| メキシカンライム     | > 1 0 0 0  | 1 2 4      |
| タヒチライム       | > 1 0 0 0  | 1 3 4      |
| ベルガモット       | 2 7 5  | 3 9 8      |
| ピロロ          | > 1 0 0 0  | 9 1        |
| シトロン         | > 1 0 0 0  | 6 7        |
| アレンユーレカレモン   | 5 0 0  | 1 5 5      |
| スイートレモン      | 3 0 2  | 6 6        |
| ルミー          | 2 7 5  | 2 4        |
| ヒラドブタン       | > 1 0 0 0  | 4 7 0      |
| シャデンユ        | > 1 0 0 0  | 3 0 5      |
| マーシュグレイプフルーツ | > 1 0 0 0  | > 1 0 0 0  |
| キヌカワ         | 5 6 0  | > 1 0 0 0  |
| ハツサク         | > 1 0 0 0  | 8 9 0      |
| ナツダイダイ       | 5 3 0  | 7 0 0      |
| サンボウカン       | 2 3 0  | 5 9 0      |
| シュウトウ        | 5 8  | 3 6 0      |
| バレンシアオレンジ    | > 1 0 0 0  | 8 6        |
| モリタネーブル      | > 1 0 0 0  | 4 7 0      |
| イヨカン         | > 1 0 0 0  | > 1 0 0 0  |
| ヒュウガナツ       | > 1 0 0 0  | 4 9 0      |
| シュンコウカン      | > 1 0 0 0  | 1 0 0 0    |

【表 2】

第 1 表 (その2)

| カンキツ品種    | I C <sub>50</sub> (50%活性阻害濃度、 $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) |            |
|-----------|---|------------|
|           | リボキシゲナーゼ  | シクロオキシゲナーゼ |
| ユズ        | > 1 0 0 0   | > 1 0 0 0  |
| スタチ       | 1 7 0   | > 1 0 0 0  |
| カボス       | > 1 0 0 0   | > 1 0 0 0  |
| クネンボ      | > 1 0 0 0   | > 1 0 0 0  |
| スギヤマウンシュウ | > 1 0 0 0   | > 1 0 0 0  |
| ヤツシロ      | 7 5   | 7 2 0      |
| ケラジ       | > 1 0 0 0   | 4 4 2      |
| オートー      | > 1 0 0 0   | 5 8 0      |
| ボンカン      | 9 3   | 2 9 8      |
| オオベニミカン   | 3 0 2   | 3 2 2      |
| ジミカン      | 1 5 8   | 1 2 0      |
| シカイカン     | 5 9 2   | 5 0        |
| クレメンティン   | > 1 0 0 0   | 7 7 0      |
| タチバナ      | 8 0   | 8 1 0      |
| コベニミカン    | 4 2 0   | 7 1        |
| キシウミカン    | 8 8 0   | 3 0 0      |
| サンキツ      | 9 3 0   | 5 9 3      |
| シークワッシャー  | > 1 0 0 0   | > 1 0 0 0  |
| コウジ       | 8 9   | > 1 0 0 0  |
| シキキツ      | 8 3 0   | > 1 0 0 0  |
| ナガミキンカン   | > 1 0 0 0   | 6 4 3      |
| ニンボウキンカン  | > 1 0 0 0   | 6 8 0      |
| カラタチ      | > 1 0 0 0   | > 1 0 0 0  |

【0021】

【表3】

第 2 表

| カンキツ品種       | 阻害活性(%) (添加濃度 10 $\mu$ g/m <sup>1</sup> ) |            |
|--------------|---|------------|
|              | リボキシゲナーゼ                                  | シクロオキシゲナーゼ |
| カブヤオ         | 0. 0                                      | 0. 0       |
| メキシカンライム     | 2. 0                                      | 8. 2       |
| タヒチライム       | 0. 0                                      | 1 2. 6     |
| ベルガモット       | 0. 0                                      | 1. 1       |
| ビロロ          | 0. 0                                      | 0. 0       |
| シトロン         | 0. 0                                      | 8. 0       |
| アレンユールカレモン   | 0. 0                                      | 1 7. 8     |
| スイートレモン      | 0. 0                                      | 1 2. 0     |
| ルミ           | 0. 0                                      | 3 6. 4     |
| ヒラドブンタン      | 9. 7                                      | 5. 6       |
| シャデンユ        | 8. 1                                      | 0. 0       |
| マーシュグレープフルーツ | 9. 0                                      | 0. 3       |
| キヌカワ         | 0. 0                                      | 0. 0       |
| ハッサク         | 1 3. 6                                    | 3. 4       |
| ナツダイダイ       | 0. 0                                      | 0. 0       |
| サンボウカン       | 1 0. 2                                    | 0. 0       |
| シュウトウ        | 2 1. 7                                    | 0. 0       |
| バレンシアオレンジ    | 0. 0                                      | 1 7. 6     |
| モリタネーブル      | 0. 0                                      | 0. 0       |
| イヨカン         | 0. 0                                      | 0. 0       |
| ヒュウガナツ       | 0. 0                                      | 0. 0       |
| シュンコウカン      | 6. 0                                      | 3. 2       |
| ユズ           | 7. 5                                      | 0. 0       |
| スダチ          | 1 3. 4                                    | 3. 1       |
| カボス          | 1. 0                                      | 0. 0       |
| クネンボ         | 0. 0                                      | 1 1. 4     |
| スギヤマウンシュウ    | 0. 0                                      | 0. 0       |
| ヤツシロ         | 1 1. 2                                    | 0. 0       |
| ケラジ          | 1 2. 5                                    | 3. 7       |
| オートー         | 5. 3                                      | 2. 1       |
| ボンカン         | 2 4. 9                                    | 0. 0       |
| オオベニミカン      | 6. 0                                      | 0. 0       |
| ジミカン         | 4. 2                                      | 1 3. 0     |
| シカイカン        | 0. 0                                      | 2 4. 4     |
| クレメンティン      | 0. 8                                      | 7. 5       |
| タチバナ         | 8. 0                                      | 0. 0       |
| コベニミカン       | 0. 0                                      | 7. 0       |
| キシウミカン       | 0. 0                                      | 0. 0       |
| サンキツ         | 2 1. 1                                    | 0. 0       |
| シークワッシャー     | 0. 0                                      | 0. 0       |
| コウジ          | 1 7. 6                                    | 0. 0       |
| シキキツ         | 1. 1                                      | 0. 0       |
| ナガミキンカン      | 0. 0                                      | 0. 0       |
| ニンボウキンカン     | 0. 0                                      | 0. 0       |
| カラタチ         | 2 0. 0                                    | 0. 0       |

【0022】

【表4】



第 3 表

| カンキツ品種       | 阻害活性(%) (添加濃度 100 $\mu$ g/ml) |            |
|--------------|-------------------------------|------------|
|              | リボキシゲナーゼ                      | シクロオキシゲナーゼ |
| カブヤオ         | 0. 0                          | 4 2. 9     |
| メキシカンライム     | 0. 0                          | 4 7. 2     |
| タヒチライム       | 0. 0                          | 4 5. 6     |
| ベルガモット       | 5 5. 2                        | 7. 0       |
| ビロロ          | 0. 0                          | 5 2. 1     |
| シトロ          | 0. 0                          | 5 9. 0     |
| アレニューレカレモン   | 2 1. 9                        | 4 1. 9     |
| スイートレモン      | 3 2. 2                        | 5 8. 6     |
| ルミ           | 3 4. 1                        | 7 1. 8     |
| ヒラドブント       | 1 6. 8                        | 0. 0       |
| シャデンユ        | 0. 0                          | 4. 3       |
| マーシュグレイプフルーツ | 1 1. 6                        | 0. 0       |
| キヌカワ         | 2 9. 4                        | 0. 0       |
| ハッサク         | 1 1. 4                        | 0. 0       |
| ナツダイダイ       | 3 1. 4                        | 0. 0       |
| サンボウカン       | 4 0. 3                        | 0. 0       |
| シュウトウ        | 5 8. 6                        | 7. 9       |
| バレンシアオレンジ    | 0. 0                          | 5 2. 4     |
| モリタネーブル      | 0. 0                          | 1 1. 2     |
| イヨカン         | 2. 2                          | 0. 0       |
| ヒュウガナツ       | 0. 0                          | 0. 0       |
| シュンコウカン      | 6. 7                          | 0. 0       |
| ユズ           | 5. 8                          | 0. 0       |
| スダチ          | 4 7. 0                        | 0. 0       |
| カボス          | 1 1. 8                        | 0. 0       |
| クネンボ         | 3. 0                          | 0. 0       |
| スキヤマウンシュウ    | 0. 6                          | 0. 0       |
| ヤツシロ         | 5 5. 5                        | 0. 0       |
| ケラジ          | 2 6. 1                        | 9. 4       |
| オートー         | 4 3. 2                        | 0. 0       |
| ボンカン         | 5 0. 9                        | 2 1. 0     |
| オオベニミカン      | 4 8. 3                        | 1 2. 8     |
| ジミカン         | 4 3. 9                        | 4 6. 6     |
| シカイカン        | 2 2. 4                        | 6 1. 1     |
| クレメンティン      | 2 2. 8                        | 5. 5       |
| タチバナ         | 5 3. 4                        | 0. 0       |
| コベニミカン       | 3 8. 3                        | 5 7. 4     |
| キシウミカン       | 2 7. 2                        | 1 7. 5     |
| サンキツ         | 4 3. 7                        | 0. 0       |
| シークワッシャー     | 4 3. 2                        | 0. 0       |
| コウジ          | 5 1. 6                        | 0. 0       |
| シキキツ         | 3 0. 2                        | 0. 0       |
| ナガミキンカン      | 0. 0                          | 0. 0       |
| ニンボウキンカン     | 0. 0                          | 0. 0       |
| カラタチ         | 3 2. 0                        | 0. 0       |

【0023】

【表5】

第 4 表

| カンキツ品種       | 阻害活性(%) (添加濃度 1000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) |            |
|--------------|--|------------|
|              | リボキシゲナーゼ                                     | シクロオキシゲナーゼ |
| カブヤオ         | 30.3   | 81.3       |
| メキシカンライム     | 30.0   | 76.5       |
| タヒチライム       | 37.6   | 80.9       |
| ベルガモット       | 68.7   | 79.2       |
| ビロロ          | 49.8   | 90.4       |
| シトロン         | 0.0  | 64.0       |
| アレンユーレカレモン   | 62.2   | 85.4       |
| スイートレモン      | 69.4   | 95.6       |
| ルミー          | 80.4   | 85.7       |
| ヒラドブント       | 0.0  | 53.2       |
| シャデンユ        | 0.0  | 88.2       |
| マーシュグレープフルーツ | 35.6   | 23.7       |
| キヌカワ         | 56.5   | 47.2       |
| ハッサク         | 5.0  | 54.8       |
| ナツダイダイ       | 57.3   | 62.2       |
| サンボウカン       | 67.2   | 67.7       |
| シュウトウ        | 86.4   | 83.5       |
| バレンシアオレンジ    | 20.7   | 69.1       |
| モリタネーブル      | 17.0   | 69.3       |
| イヨカン         | 0.0  | 38.0       |
| ヒュウガナツ       | 18.7   | 73.8       |
| シュンコウカン      | 22.4   | 50.1       |
| ユズ           | 7.6  | 22.9       |
| スダチ          | 60.0   | 0.0        |
| カボス          | 20.3   | 0.0        |
| クネンボ         | 19.1   | 20.2       |
| スギヤマウンシュウ    | 0.0  | 30.2       |
| ヤツシロ         | 64.0   | 60.1       |
| ケラジ          | 24.4   | 72.1       |
| オートー         | 47.9   | 69.4       |
| ボンカン         | 75.1   | 81.9       |
| オオベニミカン      | 62.6   | 85.7       |
| ジミカン         | 74.7   | 89.9       |
| シカイカン        | 58.0   | 86.5       |
| クレメンティン      | 45.5   | 54.6       |
| タチバナ         | 59.4   | 55.0       |
| コベニミカン       | 57.0   | 91.0       |
| キシウミカン       | 51.2   | 85.7       |
| サンキツ         | 50.2   | 70.0       |
| シークワッシャー     | 47.4   | 48.9       |
| コウジ          | 63.5   | 0.0        |
| シキキツ         | 51.5   | 0.8        |
| ナガミキンカン      | 0.0  | 62.0       |
| ニンボウキンカン     | 0.0  | 60.2       |
| カラタチ         | 21.4   | 48.2       |

## 【0024】実施例2

実施例1で調製した組成物のうち、初生カンキツ亜属ライム区真正ライム亜区タヒチライムと後生カンキツ亜属ミカン区コミカン亜区柑香類小果亜類狭葉品類タチバナを用いて、その添加濃度とアラキドン酸代謝酵素阻害活性との関係を検討し、その結果を図3(a), (b)に示した。なお、反応は組成物の添加量以外は実施例1と同様に行った。図から明らかなように、タヒチライム活性阻害パターンはTXB<sub>2</sub>の生成を阻害し、12-HETEの生成量は添加濃度100  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , 10  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , 1  $\mu\text{g}/\text{ml}$ および0.1  $\mu\text{g}/\text{ml}$ でコントロールの値より多い。この現象は、該カンキツ組成物にシクロオキシゲナーゼを阻害する物質が選択的に存在し、12-HETEを阻害する物質が殆ど存在しない結果、両酵素の競合が起こらずにアキドン酸の大部分が12-リボキシゲナーゼにのみ分解されて、見かけ上12-HETEの生成量が増加したことを示す。一方の阻害成

分を精製して行くと、他方の阻害成分が除去されるので、基質であるアキドン酸の奪い合いが起こらず、他方の酵素分解物の生成量が見かけ上増加する現象が起きるのである。

## 【0025】実施例3

初生カンキツ亜属シトロン区大果中間亜区ルミーおよび後生カンキツ亜属ミカン区コミカン亜区柑香類大果亜類シカイカンのそれぞれの未熟または適熟果実をフラベド、アルベド、じょうのうおよびジュースの各部位に分け、フラベド、アルベドおよびじょうのうの凍結乾燥物1.5gを、ジュースは45mlを用いて実施例1と同様にして組成物を調製した。これらの組成物を用いて、実施例1と同様の反応でシクロオキシゲナーゼ(TXB<sub>2</sub>)阻害活性を測定した。結果を第5表に示した。なお、組成物の添加濃度は100  $\mu\text{g}/\text{ml}$ で行った。表から明らかなように、ルミーおよびシカイカン果実のフラベド、アルベド部位に高いシクロオキシゲナーゼ阻害活性

が見られ、じょうのうにはやや弱い阻害活性が見られた。しかし、ジュースには阻害活性が見られなかった。また、果実の熟度別では、適熟と未熟の阻害活性は同程度であるので、阻害物質の供給源としては多量に採取で\*

\*きる適熟が望ましい。

【0026】

【表6】

第 5 表

| 果実部位  | シクロオキシゲナーゼ活性阻害率 (%) |      |                  |      |
|-------|---------------------|------|------------------|------|
|       | ルミール<br>適 熟 未 熟     |      | シカイカン<br>適 熟 未 熟 |      |
| フラベド  | 59.5                | 58.0 | 55.6             | 58.0 |
| アルベド  | 51.8                | 51.5 | 49.2             | 51.5 |
| じょうのう | 47.8                | 29.4 | 22.9             | 29.4 |
| ジュース  | 0.0                 | 0.0  | 0.0              | 0.0  |

#### 【0027】実施例4

初生カンキツ亜属シトロネ区大果中間亜区ルミールおよび後生カンキツ亜属ミカン区コミカン亜区柑香類大果亜類シカイカンのそれぞれの適熟果実をフラベド、アルベド、じょうのうおよびジュースの各部位に分け、フラベド、アルベドおよびじょうのうの凍結乾燥物1.5gを、ジュースは45mlを用いて実施例1と同様にして組成物を調製した。これらの部位の重量および組成物の※20

※重量を測定し、結果を第6表に示した。なお、組成物の重量は10果実の平均で表した。表から明らかなように、組成物の重量および含量は、ルミールおよびシカイカンのどちらも果皮のフラベド、アルベド部位が高い。それ故、これら2つの部位がシクロオキシゲナーゼ阻害成分の供給源として望ましい。

【0028】

【表7】

第 6 表

| 果実部位  | 生重<br>(g) | ルミール<br>組成物重<br>(mg) | 含量<br>(%) | シカイカン<br>生重<br>(g) | 組成物重<br>(mg) | 含量<br>(%) |
|-------|-----------|----------------------|-----------|--------------------|--------------|-----------|
|       |           |                      |           |                    |              |           |
| フラベド  | 23.47     | 351.79               | 1.50      | 27.05              | 858.20       | 3.18      |
| アルベド  | 25.52     | 380.70               | 1.49      | 19.08              | 500.92       | 2.62      |
| じょうのう | 15.43     | 122.28               | 0.79      | 51.06              | 583.23       | 1.14      |
| ジュース  | 112.08    | 66.75                | 0.06      | 95.29              | 44.89        | 0.05      |

#### 【0029】実施例5

後生カンキツ亜属ミカン区コミカン亜区柑香類大果亜類ボンカンおよび後生カンキツ亜属ミカン区コミカン亜区柑香類小果亜類狭葉品類タチバナのそれぞれの未熟、適熟果実をフラベド、アルベド、じょうのうおよびジュースの各部位に分け、フラベド、アルベドおよびじょうのうの凍結乾燥物1.5gを、ジュースは45mlを用いて実施例1と同様にして組成物を調製した。これら組成物を用いて実施例1と同様の反応で12-HETEの阻害活性を調べた。結果を第7表に示した。なお、組成物★

★の添加濃度は100μg/mlで行なった。表から明らかなように、12-HETEの阻害活性は、タチバナ果実のじょうのう以外の部位で見られたが、特にボンカンのフラベド、アルベド部位に高い阻害活性が認められた。また、適熟と未熟の阻害活性の相違は、ボンカンのじょうのうとジュースで適熟の阻害活性が高く、その他の部位では差が小さいか、適熟の阻害活性が高いという結果が得られた。

【0030】

【表8】

第 7 表

| 果実部位  | 12-リボキシゲナーゼ活性阻害率 (%) |      |                 |      |
|-------|----------------------|------|-----------------|------|
|       | ボンカン<br>適 熟 未 熟      |      | タチバナ<br>適 熟 未 熟 |      |
| フラベド  | 49.0                 | 56.5 | 25.2            | 20.8 |
| アルベド  | 53.1                 | 54.6 | 31.1            | 22.2 |
| じょうのう | 42.3                 | 13.9 | 0.0             | 0.0  |
| ジュース  | 54.3                 | 34.5 | 33.7            | 26.7 |

#### 【0031】実施例6

後生カンキツ亜属ミカン区コミカン亜区柑香類大果亜類ボンカンおよび後生カンキツ亜属ミカン区コミカン亜区柑香類小果亜類狭葉品類タチバナのそれぞれの適熟果実

をフラベド、アルベド、じょうのうおよびジュースの各部位に分け、フラベド、アルベドおよびじょうのうの凍結乾燥物1.5gを、ジュースは45mlを用いて実施例1と同様にして組成物を調製した。これらの部位の重

量および組成物の重量を測定し、結果を第8表に示した。なお、組成物の重量は10果実の平均で表した。表から明らかなように、組成物の重量および含量は、ボンカンおよびタチバナのどちらも果皮のフラベド、アルベ\*

第8表

| 果実部位  | ボンカン<br>生重<br>(g) | 組成物重<br>(mg) | 含量<br>(%) | タチバナ<br>生重<br>(g) | 組成物重<br>(mg) | 含量<br>(%) |
|-------|-------------------|--------------|-----------|-------------------|--------------|-----------|
| フラベド  | 25.17             | 540.54       | 2.15      | 8.62              | 136.06       | 1.58      |
| アルベド  | 28.66             | 560.27       | 1.95      | 3.19              | 56.09        | 1.76      |
| じょうのう | 26.11             | 411.89       | 1.58      | 11.23             | 59.49        | 0.53      |
| ジュース  | 116.13            | 153.29       | 0.13      | 10.39             | 5.63         | 0.05      |

## 【0033】

【発明の効果】本発明によれば、カンキツ類の果皮からアラキドン酸代謝酵素に対する阻害活性を示す組成物が得られる。このものを食品素材として各種食品に添加することにより、動脈硬化、血栓などの循環器系疾患、アレルギー性疾患や炎症などの疾患を効果的に予防、治療することができる。したがって、本発明はカンキツ類の新たな用途を開発したものであり、カンキツ類の一層の有効利用が図られる。

## 【図面の簡単な説明】

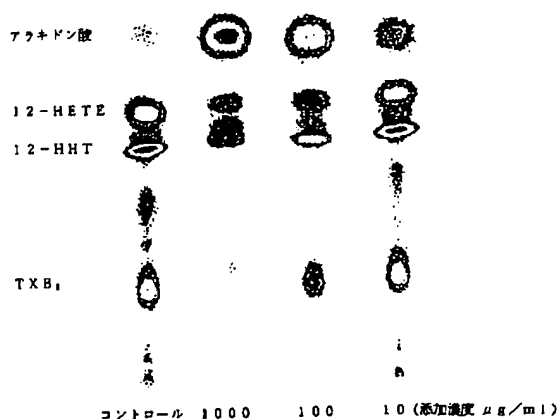
【図1】 ボンカンのアルベド部位から調製した組成物の各添加濃度における酵素反応生成物のオートラジオグラフィパターンを示した図である。

【図2】 各種カンキツ品種の果皮抽出物とアラキドン酸代謝に及ぼす影響との関係を示した図である。

【図3】 aはアラキドン酸代謝に対するタヒチライム果皮抽出物の影響を示した図であり、bはアラキドン酸代謝に対するタチバナ果皮抽出物の影響を示した図である。

## 【符号の説明】

【図1】



\*ド部位が高い。それ故、これら2つの部位が12-HETE阻害成分の供給源として望ましい。

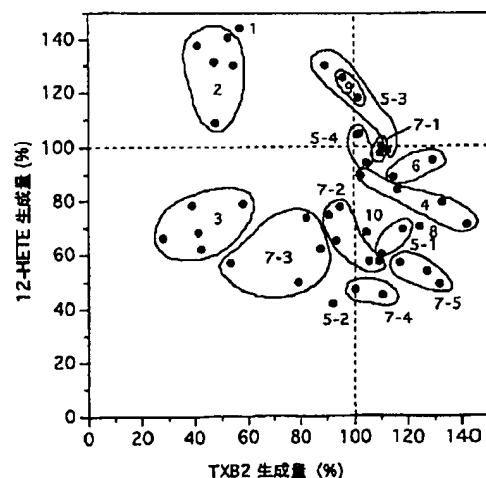
【0032】

【表9】

図2における各符号は下記の果実品種を表す。

- 1 パペダ区
- 2 ライム区
- 3 シトロン区
- 4 ザボン区
- 5 ダイダイ区
- 5-1 ダイダイ区中果中間亜区
- 5-2 ダイダイ近似亜区
- 5-3 アマダイダイ近似亜区
- 5-4 ユズ近似亜区
- 6 ユズ区
- 7 ミカン区
- 7-1 真正ミカン亜区
- 7-2 コミカン亜区-芳香類
- 7-3 コミカン亜区-柑香類-大果亜類
- 7-4 コミカン亜区-柑香類-小果亜類-狭葉品類
- 7-5 コミカン亜区-柑香類-小果亜類-広葉品類
- 8 トウキンカン区
- 9 キンカン属
- 10 カラタチ属

【図2】



【図3】

